

7. 生体組織を再生する —再生医学に向けて—

(独) 物質・材料研究機構 物質研究所 田中 順三

1. はじめに

現在、わが国は急速に高齢化が進み、2020年には高齢人口割合が25%をこえると予測されている。すでに運動機能系疾患の患者数は、国内で120万人、世界全体で1000万人を越えると推定されている。本研究プロジェクトでは、分子複合系の視点から運動機能系組織を再生する生体材料について研究を進めており、これまでに得られた成果を報告する。

2. 骨の再生材料

骨は典型的な有機-無機複合系で、主にコラーゲンと水酸アパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) からできている。アパタイトは大きさ20~40nmの微結晶であり、コラーゲンはそれより長い300nmの高分子である。骨の中では、アパタイトとコラーゲンは、互いに整列しているため高い曲げ強度と圧縮強度を示す。

骨は、細胞によって制御された局所空間で自己組織化的に形成される。その自己組織化の条件を試験管の中で探すため、リン酸源として H_3PO_4 、カルシウム源として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を用いた図1のような反応系を組み立てた (コラーゲンはリン酸源に入れてある)。pHと温度を変化させて自己組織化の条件を探した結果、アパタイトとコラーゲンが整列するもっとも良い条件は、pH8~9、温度~40°Cであることがわかった。これは、我々の生体内の条件に近く、コラーゲンが水和水を離脱する温度、および等電点のpHによく一致していた。

自己組織化した材料は長さ20 μm の繊維からできており、それを拡大すると図2のようである。黒く見える部分がアパタイトの微結晶で、左上から右下に粒子が並んでいる。挿入図 (電子線回折) のようにアパタイトの002反射が三日月型になっていることから、アパタイトのc軸が配向していることがわかる。これと同じ回折現象は本当の骨でも観測される。

以上のように、得られた複合体材料は骨によく似た組成と微細構造をもっている。そこで、ビーグル犬の脛骨 (20mmの離断骨欠損) に複合体を埋植した (図3)。レントゲン像から、術後12週で骨形成が十分進み、材料は吸収されて本当の骨

● 複合体の作成法

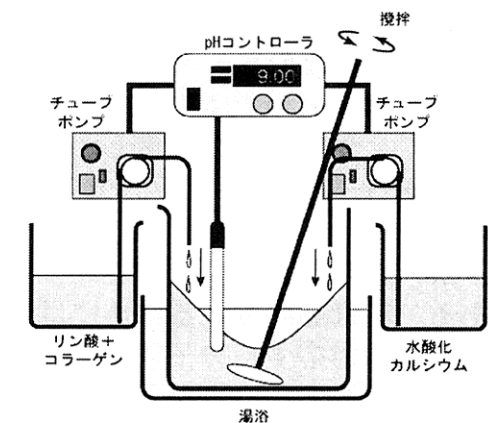
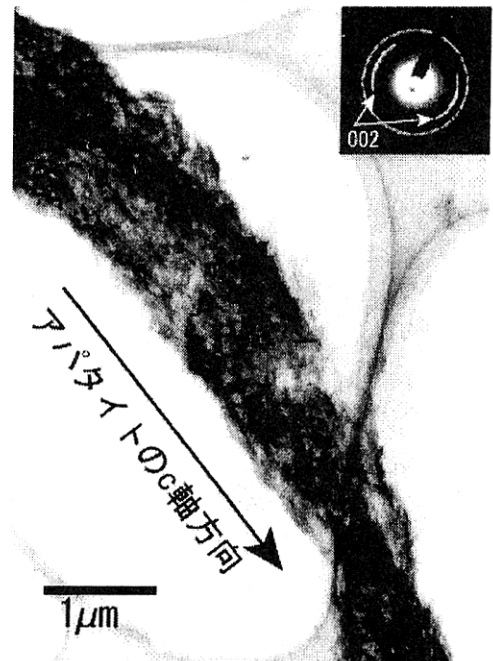


図1 合成装置↑

図2 自己組織化構造↓



に変化した。残存している複合体の周囲を観察すると、破骨細胞が複合体の表面に接着して材料を吸収し、その近くに骨芽細胞が誘導されて骨を形成することがわかった。これは、自己組織化した複合体が生体内の“骨代謝系”に取り込まれ、骨が再生されることを意味している。

3. 軟骨の再生材料

軟骨疾患は高齢化や過度のスポーツによって起こり、代表的な疾患として変形性関節症・慢性リウマチ・スポーツ外傷があげられる。軟骨は、代謝能力が骨組織に比べて著しく弱く、一度損傷すると自然に治癒することがむずかしい。そのため、現在、有効な治療法がなく、軟骨再生法が世界的に研究されている。具体的には、軟骨組織を一度生体外に取り出し、試験管の中で3次元培養して再び損傷部位に移植する方法が検討されている。

軟骨は、他の組織に比べて細胞の数が極端に少なく、全体積の1%程度しか存在しないのが特徴である。軟骨はほとんどが細胞外マトリックスであり、その主成分はコラーゲン・ヒアルロン酸・プロテオグリカンという3つの高分子である。軟骨を再生するためには、細胞外マトリックスに対応する分子複合系を作り、その中で細胞を培養すれば良いと考えられる。そこで、ヒアルロン酸とコラーゲンからなる分子複合系の作製を試みた。

ヒアルロン酸とコラーゲンを単純に混ぜると、ヒアルロン酸のカルボキシル基（マイナス電荷）とコラーゲンのアミノ基（プラス電荷）が結合してポリイオンコンプレックスを作って沈殿物する。この沈殿物は均一な複合体を作るのを阻害する。PHや塩濃度を変えて沈殿物ができない条件を見だし、その条件下でヒアルロン酸とコラーゲンを反応させて図4のような材料を得た。この材料は、10~100 μm の小さな孔が多数つながっており、軟骨細胞の3次元培養に適している。

この材料上で軟骨細胞を1週間培養した。その結果、細胞数が通常の方法（コラーゲン）に比較して4倍以上に大きくなった。しかも、細胞は軟骨細胞の形を維持し続けたため、この複合系は「脱分化」を抑制することがわかった。現在、injection可能な材料を開発しつつある。

4. 神経の再生材料

ケガなどで神経が損傷した場合、治療のために自分の神経を採取して損傷部位に移植する手術が行われる。しかし、身体他の部分からたくさんの神経組織を取ることはできないし、また取り出した跡がしびれる問題が指摘されている。そのため、自分の神経を使わないで治療する「神経組織再生法」が研究されている。

神経組織の再生は、図5のように、切断した神経の両端をチューブでつなぎ、その

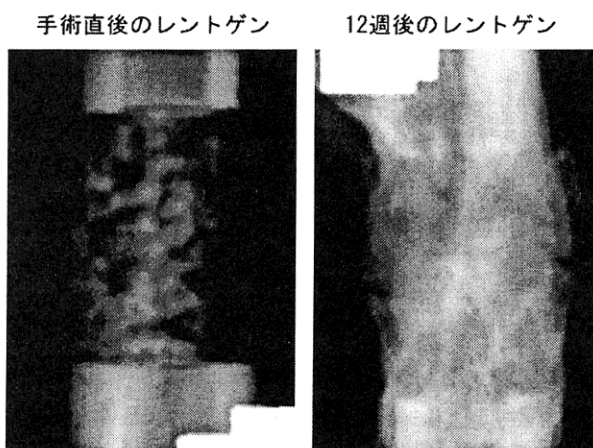


図3 骨類似材料による骨再生

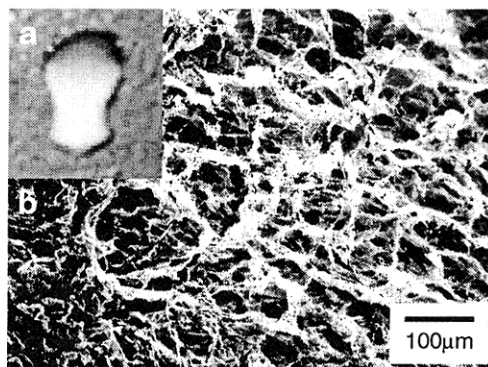


図4 高分子複合系からできた軟骨再生材料

中に神経を再生させる方法である。この手術に必要な優れたチューブ材料は、現在まだ開発されていない。そこで、神経がつながった後身体の中で自然に分解するチューブ素材の開発を試みた。

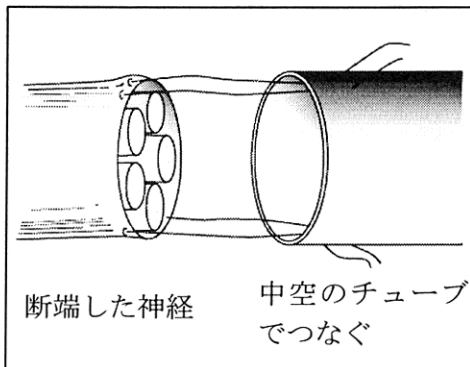


図5 神経再建術

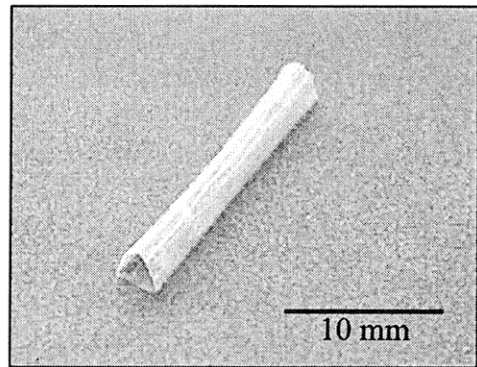


図6 カニ腱由来のキトサンチューブ

カニの足を食べた時ら、白くて細長いひものようなものが残る。そのひもがカニの腱で、キチンという高分子が規則正しく配列した構造をもっている。そのため、優れた機械的性質を示す。このカニの腱からタンパク質や無機物を除去し、さらに脱アセチル化を行ってキトサンのチューブを作った(図6)。キトサンは多糖類の一種であり、身体になじみやすく、体内で分解する性質をもっている。このキトサンを用いて、切断したラットの坐骨神経を接続した。その結果、神経組織がチューブの中で成長する様子が観察された(図7)。

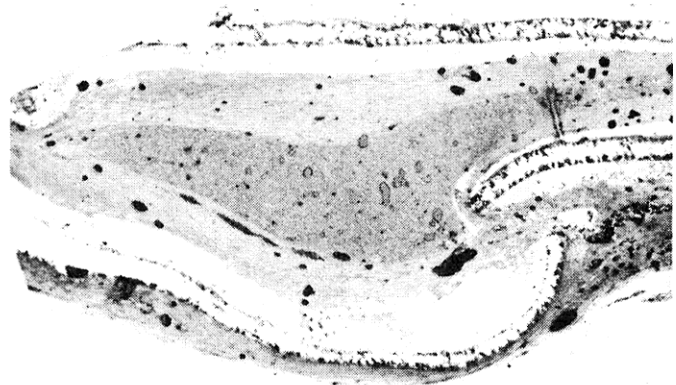


図7 キトサンチューブを用いた神経再生(12週後)。中央の平たい逆三角形が再生された軸索。

さらに神経が速く再生されるためには、ラミニン(神経組織中に存在するタンパク質と多糖類からできた複合体)が必要である。特に、ラミニン分子の中で、神経細胞を伸ばす効果をもつ部分(YIGSR、IKVAVなどのペプチド)が重要である。現在、ペプチド分子をチューブの内面に活性を失わせないで化学結合させる手法を研究している。

5. まとめ

再生医療の研究は、現在、米国・日本を中心に苛烈な国際競争が繰り広げられている真っ最中である。ここ数年のこの分野の進展にはめざましいものがあり、ハーバード大学 Medical School・MIT・融合研・ベンチャー企業など多数の機関が、組織再生に与える成長因子の役割や生体力学効果を解明しつつある。一方、マトリックス素材の研究は、コラーゲン・乳酸系ポリマーなどのさまざまな材料が取り上げられて研究が進んでいる。我々の研究グループでは、工学・医学・企業が協力して再生医学に役立つ材料開発を進めている。当日は、個々の材料特性についても詳しく紹介する。